Surveillance environnementale des pulvérisations aériennes d'insecticides contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette au Québec en 1984

Etude de la persistance des insecticides biologiques dans les eaux naturelles en milieu forestier

Par: Jacques Dugal, biologiste
Luc Major, biologiste
Pierrette Cardinal, microbiologiste
Sylvie Delisle, tech. de la faune

GOUVERNEMENT DU QUEBEC
MINISTERE DE L'ENERGIE ET DES RESSOURCES
DIRECTION DE LA CONSERVATION

Service d'Entomologie
et de Pathologie

Dr Jean-Guy Davidson
Chef de service

Division Environnement et
Sécurité

Gilles Gaboury, biol.
Responsable de division

Québec, le 26 août 1985

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier chaleureusement Madame Brigitte Lamontagne pour la mise au point de la méthode analytique; Monsieur Guy Parent pour la conception des figures et tableaux; Monsieur Renaud Dostie pour sa contribution à la méthodologie d'échantillonnage et Monsieur Bruno Boulet pour son expertise statistique. Nos remerciements s'adressent également à Messieurs Pierre-Martin Marotte et Jean Cabana pour la révision du texte.

Résumé

Dans le cadre du suivi environnemental relié au quinzième programme de pulvérisations aériennes d'insecticides contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette (Choristoneura fumiferana Clem.), une surveillance a été effectuée par le ministère de l'Energie et des Ressources afin d'étudier l'évolution de même que la persistance de Bacillus thuringiensis (B.t.) en milieu aquatique. Au total, 237 échantillons d'eau ont été prélevés en milieu lotique (ruisseaux) et lentique (mares). Les concentrations maximales d'insecticides, immédiatement après les pulvérisations, sont respectivement de 500 x 10^4 et 3530 x 10^4 u.f.c/l dans chacun de ces milieux. Le taux de diminution de B.t. est significativement différent d'une station d'échantillonnage à l'autre. Toutefois, pour toutes les stations, les concentrations de B.t. tendent à diminuer rapidement dans les premières heures suivant les arrosages. En milieu lentique, des concentrations variant de 135 à 3850 u.f.c./l ont été détectées onze mois après les opérations. En milieu lotique, le lessivage du sol pourrait expliquer la présence de B.t. plusieurs mois après les opérations où des concentrations de 34 à 3289 u.f.c./l ont été détectées.

La réalisation du projet de persistance de B.t. dans les eaux naturelles en milieu forestier permet de constater que des spores de B.t. peuvent persister dans l'eau malgré les variations climatiques québécoises. Ces concentrations résiduelles se sont avérées inférieures à 1% des valeurs maximales.

Abstract

Within the environmental follow-up related to the fifteenth program of the aerial spraying of insecticides to fight the spruce budworm (Choristoneura fumiferana Clem.), the ministère de l'Energie et des Ressources monitored the areas affected in order to study the evolution and the persistance of Bacillus thuringiensis (B.t.) in the aquatic environment. A total of 237 water samples were taken in lotic (streams) and lentic (ponds) environments. The maximum concentrations of insecticides immediately after spraying were 500 x 10^4 and 3530 x 10^4 c.f.u./l respectively in these environments. The rate at which B.t. decreases differs considerably from one sampling station to another. Nevertheless, B.t. concentrations tended to decrease quickly right after spraying for all stations. In lentic environments, concentrations varying between 135 and 3850 c.f.u./l were detected eleven months after spraying. In lotic environments, soil leaching may account for the presence of B.t. spores several months after spraying; concentrations ranging from 34 to 3289 c.f.u./l were detected.

Carrying out the project regarding the persistence of B.t. in natural waters in the forest environment enabled us to observe that B.t. spores can persist in water despite Quebec's climatic variations. These residual concentrations proved to be less than 1% of maximum values.

TABLE DES MATIERES

Remerciements..... i

Résumé..... ii

Abstract..... iii

Liste des tableaux..... v

Liste des figures..... vi

Introduction..... 1

2. Territoire et pulvérisations d'insecticides..... 2

3. Méthodologie d'échantillonnage..... 5

3.1 Milieu lotique..... 5

3.2 Milieu lentique..... 6

4. Méthodologie analytique..... 9

5. Résultats..... 11

5.1 Milieu lotique..... 11

5.2 Milieu lentique..... 14

6. Discussion..... 16

Bibliographie..... 28

Annexe 1: Composition des milieux de culture utilisés lors de l'analyse des échantillons d'eau..... 29

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Préparations d'insecticides biologiques pulvérisées dans les parcelles faisant l'objet de cette étude..... 4

Tableau 2: Echantillonnage effectué dans les milieux lotiques et lentiques à l'intérieur des parcelles suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques de 1984..... 12

Tableau 3: Concentrations de B.t. détectées en milieu lotique suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques de 1984..... 13

Tableau 4: Concentrations de B.t. détectées en milieu lentique suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques de 1984..... 15

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Superficies traitées contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette..... 3

Figure 2: Appareil à échantillonner sous la surface (Wheaton^{MD})..... 8

Figure 3: Histogrammes illustrant la diminution des concentrations de B.t. détectées en milieu lotique suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques..... 19

Figure 4: Histogrammes illustrant la diminution des concentrations de B.t. détectées en profondeur en milieu lentique suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques..... 22

1. Introduction

Le ministère de l'Energie et des Ressources a entrepris en 1984, pour une quinzième année consécutive, un programme de lutte contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette (Choristoneura fumiferana Clem.). L'opération, qui consiste en des pulvérisations aériennes d'insecticides biologiques et chimiques, a pour but de réduire les dommages occasionnés par cet insecte ravageur en abaissant les populations larvaires en deçà du seuil de nuisibilité économique.

Dans le cadre du suivi environnemental relié à ce programme, une surveillance a été effectuée par le Ministère afin d'étudier l'évolution de même que la persistance des produits dans les eaux naturelles en milieux forestiers. Les milieux aquatiques, lotique et lentique, ont toutefois été considérés de façon distincte puisque le comportement de l'insecticide est susceptible de varier en fonction des caractéristiques biophysiques respectives de chacun de ces écosystèmes.

Ce rapport s'intéresse uniquement aux concentrations d'insecticides biologiques (spores de Bacillus thuringiensis) détectées postérieurement aux pulvérisations aériennes. Quant aux données relatives aux mesures des résidus d'insecticides chimiques (aminocarbe et fénitrothion), elles font l'objet d'un autre rapport (Mamarbachi et al., 1985).

2. Territoire et pulvérisations d'insecticides

Le programme de pulvérisations 1984 s'étend sur tout le sud-est du Québec et couvre une superficie de 673 046 hectares (Fig. 1). D'une part, 366 721 ha, soit 54,5% de cette superficie, ont été traités aux insecticides chimiques dont 299 064 ha (44,4%) avec l'aminocarbe (Matacil^{MD} 180D et 180F), 33 594 ha (5,0%) avec le fénitrothion (Sumithion^{MD}) et 34 063 ha (5,1%) avec les deux insecticides. D'autre part, 306 325 ha, soit 45,5% de la superficie totale, ont reçu une application d'insecticide biologique. L'ingrédient actif, Bacillus thuringiensis var. kurstaki, a été utilisé selon diverses préparations. Il s'agit des produits suivants; Thuricide^{MD} 48LV, Thuricide ^{MD} 32LV, Futura^{MD} et Dipel^{MD} 132. De plus, dans le cadre des traitements expérimentaux, une nouvelle préparation de B.t. (SAN-415) a été utilisée sur une superficie de 175 ha dans une des parcelles surveillées. Le tableau 1 présente la description détaillée des préparations d'insecticides de même que les doses employées dans les parcelles faisant l'objet de cette étude.

Les traitements qui ont fait l'objet d'un suivi au niveau des milieux lotiques et lentiques se sont déroulées du 7 juin au 24 juin 1984. Les appareils utilisés lors de ce programme de pulvérisations sont des quadrimoteurs de type Constellation L-749 et DC-4G de même que des monomoteurs de type Piper Pawnee. Le système de pulvérisations pour les quadrimoteurs est constitué de longerons munis de 154 gicleurs ouverts. Dans le cas des monomoteurs, le système est constitué de longerons munis de 6 Mini Micronair Au-5000 ^{MD}.

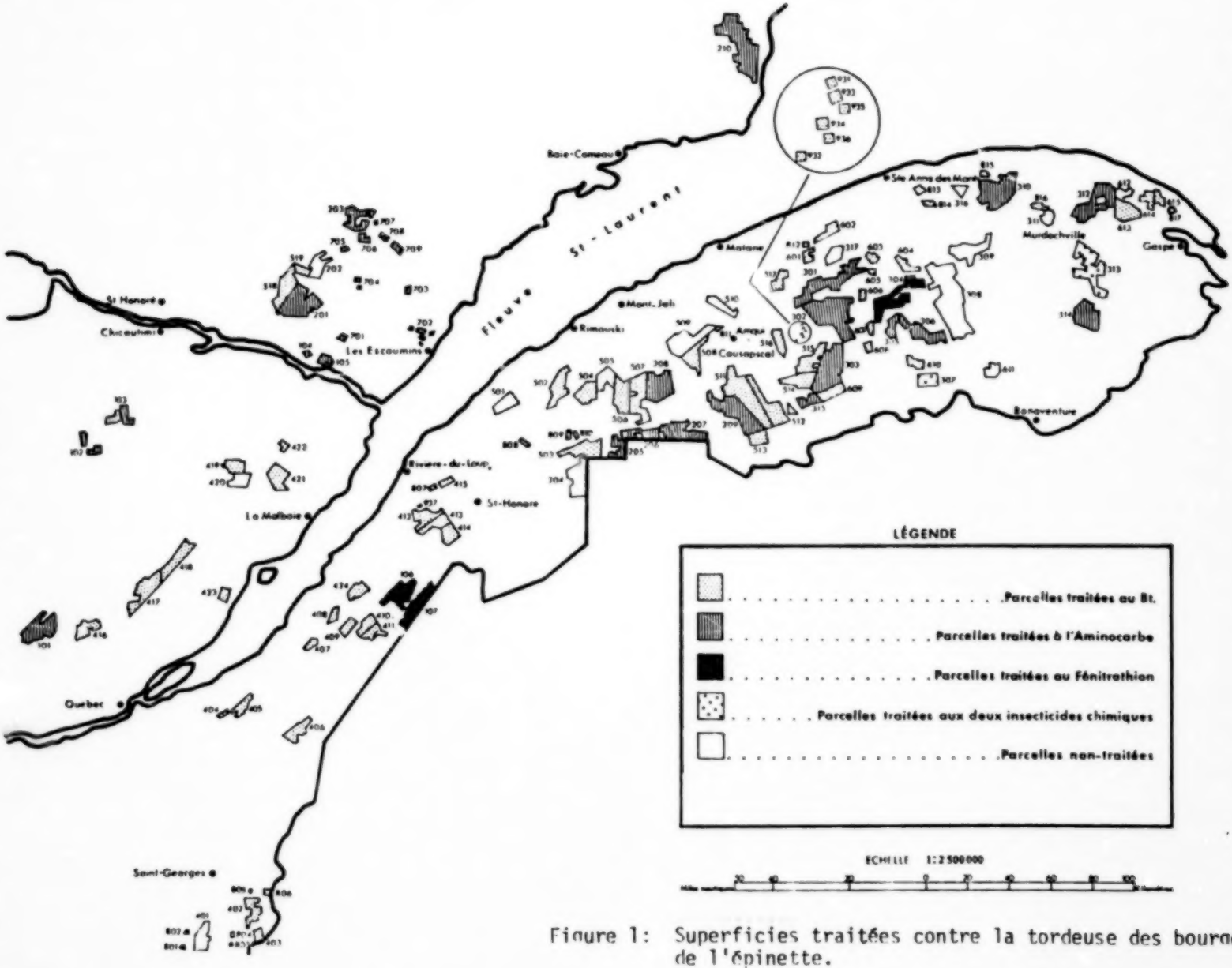


Figure 1: Superficies traitées contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette.

Tableau 1: Préparations d'insecticides biologiques pulvérisées dans les parcelles faisant l'objet de cette étude

PRODUIT	DOSE	VOLUME	PREPARATION			
			INSECTICIDE	SORBITOL	EAU	CHEVRON STICKER
Quadrimoteurs						
Thuricide 48LV	30 MUI/ha	2,37 l/ha	100%	--	--	--
Thuricide 32LV	20 MUI/ha	4,68 l/ha	50%	20%	30%	1/1600
Monomoteurs						
SAN-415	20 MUI/ha	2,37 l/ha	100%	--	--	--

3. Méthodologie d'échantillonnage

Avant d'entreprendre les manipulations, l'échantillonneur doit se laver les mains à l'hibitane afin de diminuer les risques de contamination. L'eau est récoltée à l'aide d'une bouteille stérile en polypropylène de type Boston (946 ml) avec fermeture à vis. Chaque échantillon est constitué de deux bouteilles. Celles-ci sont conservées au froid dans une glacière (4 à 6°C) jusqu'à leur arrivée au laboratoire. Un délai maximal de douze heures doit être respecté entre la récolte et l'analyse. Dans l'impossibilité de se conformer à ce délai, les échantillons sont congelés.

3.1 Milieu lotique

Les cours d'eau sont choisis en fonction de l'importance de leur bassin versant à l'intérieur de la zone traitée et de leur accessibilité. Sept stations ont été retenues pour les fins de cette étude à l'intérieur des parcelles dont trois traitées au Thuricide 32LV, trois au Thuricide 48LV et une parcelle traitée au SAN-415.

A chacune des stations, les rivières ont une largeur variant de 3 à 8 mètres et une profondeur moyenne variant de 0,5 à 2 mètres. Le pourcentage du couvert végétal au dessus des rivières varie de 30% à 80%. Les vitesses de courant n'ont pas été calculées mais une évaluation qualitative permet de préciser qu'un écoulement moyen à rapide caractérise l'ensemble des stations.

L'échantillon est prélevé en amont de l'échantillonneur au centre du cours d'eau ou le plus loin possible du rivage lorsqu'il s'agit d'un cours d'eau important. La bouteille est enfoncée dans l'eau, le goulot face au courant, de façon à ne laisser pénétrer que l'eau de surface (0 à 2cm). On retire la bouteille lorsqu'elle est remplie au volume requis (900 ml).

Un échantillon est récolté avant chaque pulvérisation. Les délais de récolte après un traitement devraient théoriquement être les suivants; 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,25, 1,5, 1,75, 2, 3 heures, 1 jour, 3 mois et 11 mois.

3.2 Milieu lentique

Les stations échantillonnées sont de petites mares situées à l'intérieur d'une parcelle pulvérisée. Neuf mares ont pu être sélectionnées dont six localisées dans des aires traitées au Thuricide 32LV et trois au Thuricide 48LV. Ce faible nombre s'explique par la difficulté de trouver des mares adéquates pour cette étude.

Les mares ont un diamètre variant de 4 à 10 mètres alors que la profondeur moyenne varie de 30cm à 1 mètre. Elles sont généralement situées dans un endroit bien exposé où le pourcentage du couvert végétal n'excède pas 10%.

A chaque station, des échantillons sont récoltés en surface et en profondeur. Pour l'eau de surface, on échantillonne le plus loin possible du bord, en enfonçant délicatement la bouteille dans l'eau afin de ne pas créer de turbu-

lence. L'échantillonneur récolte ensuite l'eau de surface en faisant un mouvement circulaire avec le bras tout en inclinant légèrement la bouteille. On retire celle-ci lorsqu'elle est remplie à 900 ml. Il est à noter que la récolte en surface est toujours effectuée avant celle en profondeur.

L'eau en profondeur est récoltée au moyen d'un appareil de type Wheaton MD (Fig. 2). Celui-ci est nettoyé à l'alcool avant chaque utilisation. Une fois fixée à cet appareil, la bouteille est introduite dans l'eau jusqu'à une profondeur de 30 cm. En dévissant lentement le bouchon pour laisser pénétrer l'eau dans la bouteille, l'échantillonneur incline l'appareil de façon à ce que celle-ci se remplisse lentement. Lorsque la bouteille est pleine, le bouchon est revissé puis on la retire lentement de l'eau.

Un échantillon est récolté en profondeur avant chaque pulvérisation. Les délais de récolte, pour les échantillons prélevés en surface et en profondeur, sont de 1, 2 et 4 heures après la pulvérisation. Par la suite, l'échantillonnage se poursuit seulement pour l'eau en profondeur en tentant de respecter la séquence suivante; 12 et 24 heures, 2, 3, 4, 5 et 7 jours, 4, 5, 6, 7, 8, 12 semaines et 11 mois.

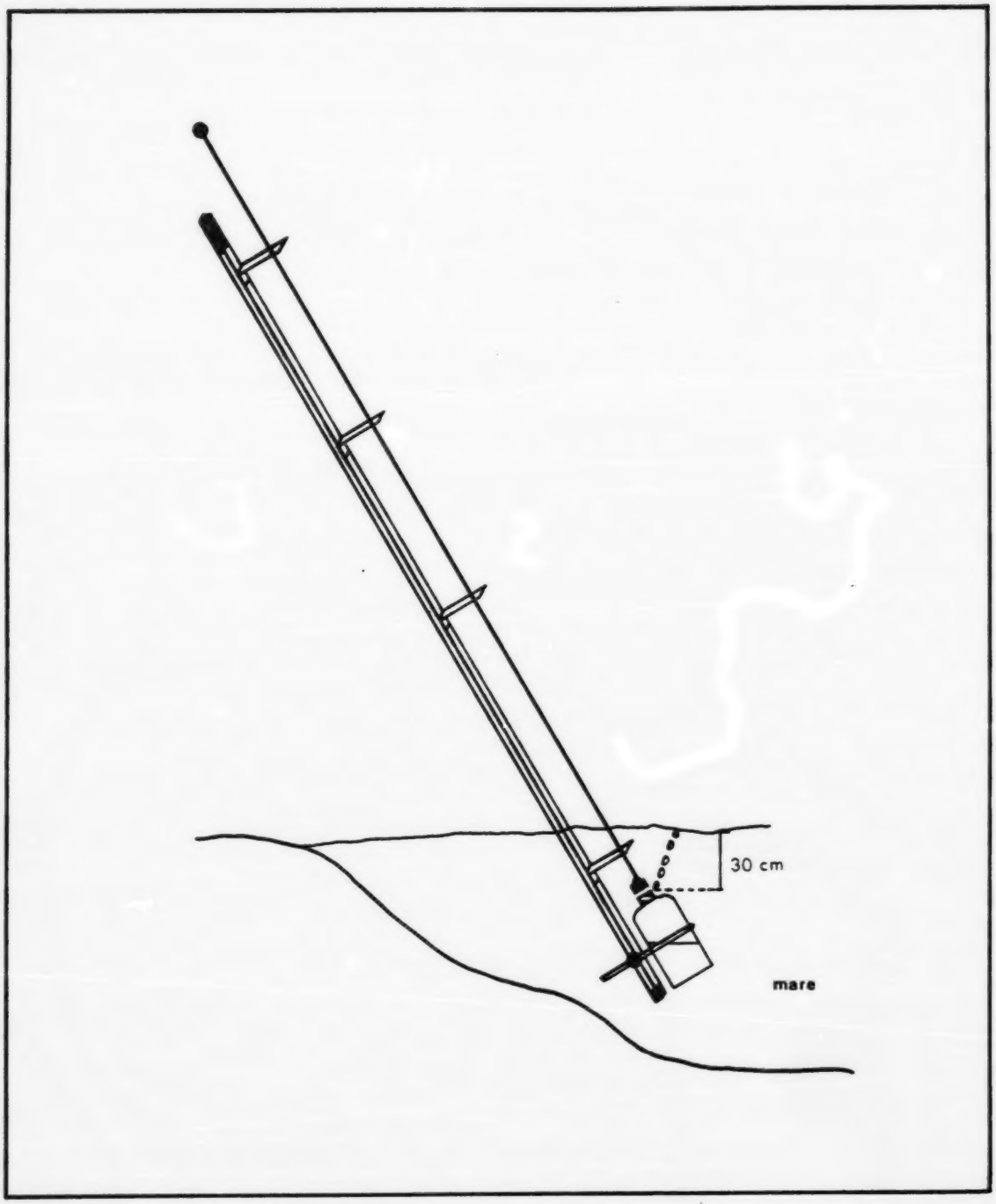


Figure 2: Appareil à échantillonner sous la surface (Wheaton[MD])

4. Méthodologie analytique

L'échantillon est préalablement pasteurisé (30 min. à 65°C) afin d'éliminer le plus grand nombre de contaminants et agité vigoureusement par la suite. Cette procédure n'affecte aucunement les spores de B.t. Selon la quantité de spores estimée pour l'échantillon, l'analyse s'effectue soit par dilution, filtration ar combinaison des deux méthodes.

La première méthode est utilisée lorsque l'on soupçonne une forte concentration. Elle consiste à prélever trois aliquotes de 0,1 ml de l'échantillon que l'on étale sur des géloses nutritives (Nutrient Agar). Par la suite, des dilutions sont réalisées à partir de l'échantillon original (10^{-1} ,10^{-2} ,10^{-3}) et pour chacune d'elle, on applique la même procédure que précédemment. La composition du Nutrient Agar est donnée à l'annexe 1.

Les pétris sont incubés à 29° C pour une durée de 14 à 16 heures. Le décompte est réalisé en choisissant les pétris contenants entre 30 et 300 colonies. Selon la quantité de colonies par pétri, certains pétris sont réincubés pour une période totale de 50 heures. Ceci permet le développement de la spore et par le fait même la libération du cristal de B.t. De ce (s) pétri (s), 20 colonies présentant les caractéristiques du B.t. (surface plate d'apparence rugueuse) sont sélectionnées après quoi le pourcentage de B.t. est déterminé par la coloration Smirnoff qui met en évidence le cristal de B.t. Cette méthode permet donc de différencier B.t. des autres bacilles qui présentent un aspect semblable sur géloses.

Dans le cas où la quantité de spores estimée dans l'échantillon est faible, on procède à une analyse par filtration. Des volumes de 10 ml, 25 ml, 50 ml et 100 ml sont filtrés à l'aide d'une pompe à vide munie d'un entonnoir dans lequel on dispose une membrane filtrante de type Millipore^{MD} dont la porosité est de 0,45µ . Après filtration du volume désiré, le filtre est déposé sur des géloses nutritives (Nutrient Agar). Par la suite, la même méthodologie est utilisée pour le décompte et l'estimation du pourcentage de B.t. sauf que dans ce cas, seuls les pétris contenant entre 20 et 80 colonies sont considérés comme valides pour le décompte.

La totalité des échantillons, à l'exception de ceux récoltés 11 mois après les pulvérisations, ont fait l'objet de l'analyse décrite ci-haut. Par ailleurs, la méthodologie analytique pour les échantillons prélevés en 1985 (post 11 mois) diffère légèrement. En effet, en 1985, un milieu PEMBA (sélectif pour quelques bacilles seulement dont Bacillus cereus et Bacillus thuringiensis) a été utilisé afin d'éliminer la pasteurisation des échantillons (annexe 1). La température d'incubation est de 37° C, le décompte est effectué après 24 heures d'incubation et le pourcentage de B.t. est déterminé après une période totale de 40 heures.

Considérant qu'une colonie peut provenir d'une seule spore ou d'un amas de spores, les résultats sont exprimés en unité formant des colonies par litre d'eau (u.f.c./l) plutôt qu'en nombre de spores viables par litre (Collins et Lyne, 1984). Etant donné aussi que l'analyse ne tient pas compte du volume total de l'échantillon, les concentrations nulles sont exprimées comme non détectées (N.D.) au lieu de 0. Notons finalement que les analyses ont été

réalisées au laboratoire de microbiologie du M.E.R. à Rivière-du-Loup.

5. Résultats

5.1 Milieu lotique

Au total, 96 échantillons d'eau ont été récoltés en surface dans les sept cours d'eau étudiés (Tableau 2). Durant la campagne d'échantillonnage, certains délais de récolte n'ont pu être respectés en raison de contraintes opérationnelles.

Le tableau 3 présente les résultats obtenus aux différentes stations. Les concentrations maximales observées varient de 51,5 X 10^4 à 500 X 10^4 u.f.c./l. Dans les premières heures suivant les pulvérisations, les quantités de B.t. retrouvées en milieu lotique diminuent considérablement. Des concentrations variant de 13,0 X 10^4 à 220 X 10^4 ont été détectées 3 heures après les arrosages. Par la suite, les valeurs continuent à décroître jusqu'à 3 mois où l'on retrouve des concentrations variant de 260 à 6320 u.f.c./l. La présence de B.t. après 11 mois a également été enregistrée alors que les concentrations varient de 34 à 3289 u.f.c./l.

Aucune spore de B.t. n'a été détectée avant les traitements à l'exception d'une concentration de 45,5 X 10^4 u.f.c./l rencontrée à la station 511-A. Notons que deux sorties d'avions, à six jours d'intervalle, ont été nécessaires pour compléter la parcelle où se trouve cette station. L'échantillon a donc été prélevé avant cette deuxième sortie et la présence du B.t. proviendrait d'une dérive de la zone traitée en amont.

Tableau 2: Echantillonnage effectué dans les milieux lotiques et lentiques à l'intérieur des parcelles suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques de 1984

Milieu	Insecticide	Nombre de stations	Nombre d'échantillons	
			Surface	profondeur
Lentique	Thuricide 32LV	6	23	75
	Thuricide 48LV	3	14	29
Lotique	Thuricide 32LV	3	41	-
	Thuricide 48LV	3	40	-
	SAN-415	1	15	-

Tableau 3: Concentrations de B.t. détectées en milieu lotique suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques de 1984

	Nombre de u.f.c. x 10^4/l							
Insecticide	Thuricide 32LV			Thuricide 48LV			SAN-415	
Stations / Délai	403 A	413 A	424 A	511 A 1ère sortie	511 A 2e sortie	511 C	931 A	Min-Max
PRE	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	45,5	N.D.	N.D.	
0.25 hre(s)	227,0	420,0	190,0	7,0	-	330,0	46,0	7,0 - 420,0
0,50	139,5	500,0	139,5	51,5	217,5	217,0	56,5	51,5 - 500,0
0,75	55,5	270,0	130,0	33,5	118,0	136,5	62,0	33,5 - 270,0
1,00	39,0	270,0	142,5	36,5	76,5	92,5	95,0	36,5 - 270,0
1,25	40,5	270,0	128,0	18,5	79,5	102,0	93,0	18,5 - 270,0
1,50	39,5	250,0	89,0	28,5	97,5	156,6	135,5	28,5 - 250,0
1,75	27,0	205,0	78,5	14,5	65,0	105,5	86,5	14,5 - 205,0
2,00	39,5	230,0	101,0	8,5	77,0	98,5	88,5	8,5 - 230,0
3,00	49,5	220,0	43,0	13,0	65,5	30,0	72,5	13,0 - 220,0
1 jour	27,0	17,5	32,0	9,0	110,0	1,5	5,5	1,5 - 110,0
3 mois	-	0,504*	0,409*	0,632*		0,030*	0,026*	0,026 - 0,632
11 mois	-	0,1130	0,3289	0,2550		0,0269	0,0034	0,0034 - 0,3289

* Moyenne de trois (3) échantillons
N.D. Non détecté

5.2 Milieu lentique

Au total, 141 échantillons d'eau ont été prélevés dans les neufs mares étudiées lors du programme d'échantillonnage en milieu lentique (Tableau 2). Pour des raisons d'ordre logistique, le protocole de récolte n'a pu être suivi rigoureusement comme prévu.

Le tableau 4 montre le nombre de u.f.c. de B.t. par litre d'eau retrouvé en surface et en profondeur dans les mares. En surface, les concentrations maximales diffèrent d'une station à l'autre et varient de 95,5 X 10^4 à 3530 X 10^4 u.f.c./l. Les concentrations maximales observées en profondeur atteignent rarement les valeurs maximales récoltées en surface. De même, les concentrations tendent à diminuer avec le temps. Après une journée, les niveaux varient de 9,5 X 10^4 à 1005 X 10^4 u.f.c./l alors qu'une semaine plus tard ils s'échelonnent de 2,5 X 10^4 à 154 X 10^4 u.f.c./l. Les valeurs continuent à décroître jusqu'à deux mois suivant les arrosages où elles varient de 6500 à 5,81 X 10^4 u.f.c./l. La présence de B.t. a également été notée dans les échantillons récoltés 11 mois après le programme de pulvérisation, alors que les concentrations sont de 135 à 5,45 X 10^4 u.f.c./l.

Les échantillons récoltés avant les arrosages ne contiennent pas de B.t. à l'exception des concentrations de 8,5 X 10^4, 4,5 X 10^4 et 3,5 X 10^4 u.f.c./l détectées respectivement dans les stations 413-C, 415-C et 415-D.

Tableau 4: Concentrations de B.t. détectées en milieu lentique suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques de 1984

Nombre de u.f.c. x 10^4/l

Insecticide	THURICIDE 32LV												THURICIDE 48LV						Min-Max.	
Stations	403 E		413 C		415 C		415 D		424 B		424 P		511 E		514 C		515 C			
Délai	S*	P**	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
PRE	-	N.D.	8.5		-	4,5	-	3,5	-	N.D.	-	N.D.	-		-	N.D.	-	N.D.		
1 hre(s)	48,5	14	505		495	265	566	1640	345	345	1242	25	3530		1115	480	967,5	100	48,5 - 3530	14 - 1640
2	95,5	14,5	445		575	565	1837	1615	115	-	15	13	1110		1120	470	760	136	15 - 1837	13 - 1615
4	21,5	12,5	505		1415	460	1667	2025	415	210	20	7,5	663		725	675		-	20 - 1667	7,5 - 2025
12		11,5				450	-	1180		66,5		9,5	-			-		162		9,5 - 1180
1 jour(s)		13	839			208	-	1005		50		9,5	-			381,5		127		9,5 - 1005
2		14				157	-	1125		17		6,5	-			245		144,5		6,5 - 1125
3						-	-	-		12,5		4	-			230		24,5		4 - 230
4						136,5	-	890		-		-	-			-		22		22 - 890
5						110	-	440		3		1	-			5,5		25		1 - 440
1 sem.						46	-	154		6		2,5	-			7,5		-		2,5 - 154
4				50,2		16,4	-	61,5		-		-	0,125			1,67		-		1,67 - 61,5
5				49,9		8,9	-	19,4		-		0,65	0,21			1,85		0,27		0,27 - 49,9
6				3,69		6,45	-	7,68		-		0,64	0,499			4,04		0,16		0,16 - 7,68
7				1,18		1,8	-	15,58		-		0,7	0,31			-		1,35		0,7 - 15,58
8				5,81***		2,67***	10,34***	-		-		0,65	-			-		0,82		0,65 - 5,81
12				106,05		12,15	16,28	-		0,415		0,18	0,56***					0,51***		0,18 - 106,05
11 mois				5,45		4,55		3,4		0,385		0,1166				0,0198		0,0135		0,0135 - 5,45

* surface
** profondeur
*** moyenne de deux (2) échantillons

6. Discussion

Avant d'entreprendre l'analyse des résultats, une hypothèse de recherche a d'abord été formulée: compte tenu que l'ingrédient actif utilisé est le même pour toutes les préparations, soit Bacillus thuringiensis, les stations sont comparables entre elles et le taux de diminution de B.t. dans l'eau serait le même pour chacune des stations respectivement en milieu lotique et lentique, et ce, indépendamment du produit utilisé et quelle que soit la concentration maximale mesurée.

Afin de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse, les résultats ont été transformés en pourcentage où la concentration maximale observée à chacune des stations correspond à 100%. Dans l'impossibilité d'analyser statistiquement ces données, puisque les concentrations maximales s'observent à différents délais, les résultats ont subi une nouvelle transformation. Une valeur de 100% a été attribuée pour toutes les stations à compter du même délai. Ce délai correspond au moment où tous les maximums ont déjà été enregistrés. Ainsi, les échantillons sont appariés et peuvent être analysés statistiquement.

En milieu lotique, les plus grandes quantités de B.t. apparaissent dans la première demi-heure suivant l'application de l'insecticide. Toutefois, la quantité maximale de B.t. à la station 931-A est apparue 1,5 heure après les pulvérisations. Rappelons que le SAN-415 n'a été utilisé qu'à titre expérimental. C'est pourquoi ces résultats n'ont pas été considérés pour les fins de cette analyse. En milieu lentique, les plus fortes concentrations

retrouvées dans l'eau de surface apparaissent dans les quatres premières heures suivant l'arrosage. Notons que les valeurs obtenues aux stations 403-E, 413-C et 511-E n'ont pas pu être intégrées au test statistique, le nombre d'échantillons étant insuffisant ($n < 8$).

Un test pour échantillons appariés (T de Wilcoxon) révèle que le taux de diminution de B.t. diffère significativement ($p < 0,05$) d'une station à l'autre et ce pour chacun des milieux aquatiques étudiés (lotique et lentique). Dès lors, l'hypothèse de recherche est rejetée puisqu'il n'est pas permis d'interpréter les résultats en prenant pour acquis que la seule variable dépendante est la concentration de B.t. Par contre, il nous sera quand même possible de discuter de la tendance à la baisse du B.t. dans l'eau suite aux pulvérisations pour toutes les stations en considérant toutefois les variables indépendantes impliquées.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la variabilité de concentrations initiales de B.t. retrouvées dans l'environnement. Au niveau même des pulvérisations, les conditions météorologiques, l'altitude de l'avion, la distance de la station par rapport aux lignes de vol traitées sont autant de facteurs qui peuvent être déterminants quant à la quantité de B.t. retrouvée au sol. En consultant les tableaux 3 et 4, le type de mélange utilisé ne semble pas affecter la quantité de B.t. dans l'eau même si la composition varie d'une préparation d'insecticide à l'autre. Les composantes purement biophysiques peuvent également être à l'origine des variations du dépôt au sol. En effet, la topographie environnante ainsi que le couvert végétal sont

des facteurs importants à considérer. Le phénomène de la dilution est sans doute un autre facteur déterminant pouvant expliquer la variabilité des résultats à cause des différences morphométriques (largeur, profondeur, etc.) entre chaque station. D'autre part, en milieu lotique, la nature et l'importance du bassin versant ainsi que la vitesse d'écoulement des eaux doivent être considérées.

La figure 3 illustre clairement la diminution du B.t. dans le temps en milieu lotique. On constate que les concentrations de B.t. diminuent très rapidement après les pulvérisations. En effet, des diminutions de plus de 49% par rapport à la quantité maximale ont été notées pour l'ensemble des stations après une journée. Onze mois plus tard les concentrations sont toujours inférieures à 0,2% de cette quantité maximale.

Il est important de signaler la présence de fluctuations dans les résultats qui pourraient provenir, principalement, d'une succession de dépôts de l'insecticide dans le bassin hydrographique à partir des lignes de vol traitées en amont. C'est le cas notamment de la station 511-C où la valeur maximale détectée après 15 minutes est de 330 $x10^4$ u.f.c./l. En effet, une heure après l'arrosage, on note une baisse considérable de 237,5 u.f.c./l soit 78% de la quantité maximale observée à cette station. Soudainement, 30 minutes plus tard, les concentrations s'accroissent jusqu'à 156,6 $x10^4$ u.f.c./l. Le même phénomène pourrait expliquer la constance des valeurs comparables à différents délais. Par exemple, à la station 413-A, les concentrations sont semblables entre 45 minutes et 3 heures après l'application. On peut donc faire l'hypothèse qu'il y a eu uniformité du dépôt sur une certaine distance en amont du point d'échantillonnage.

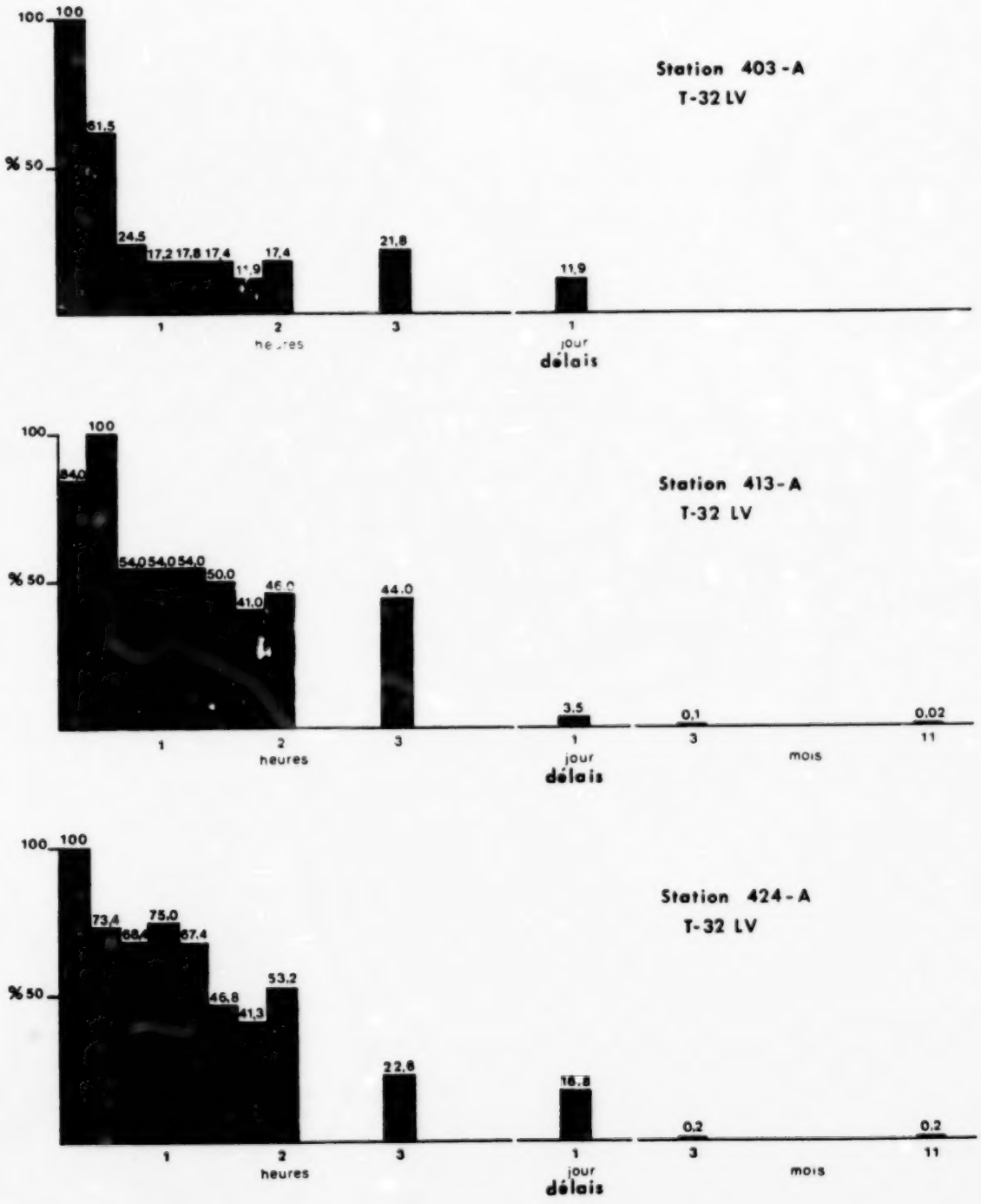
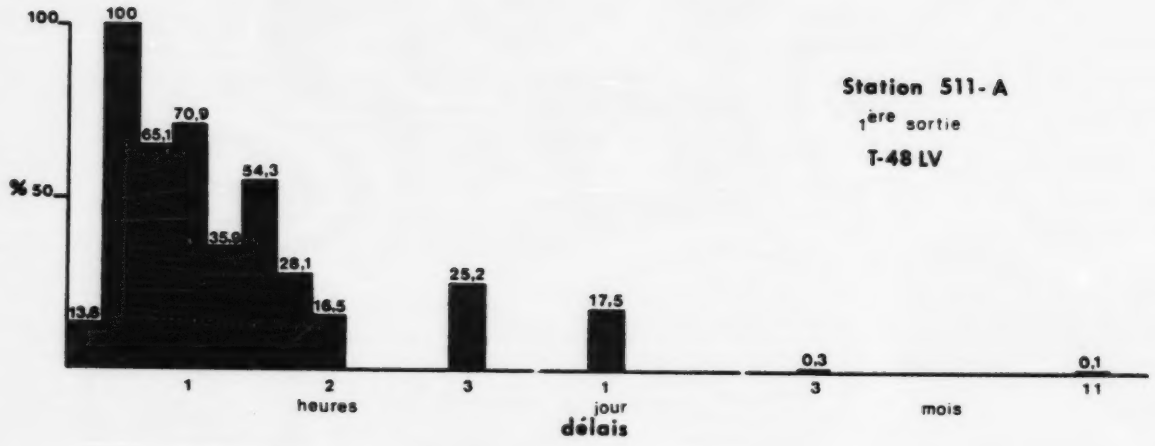
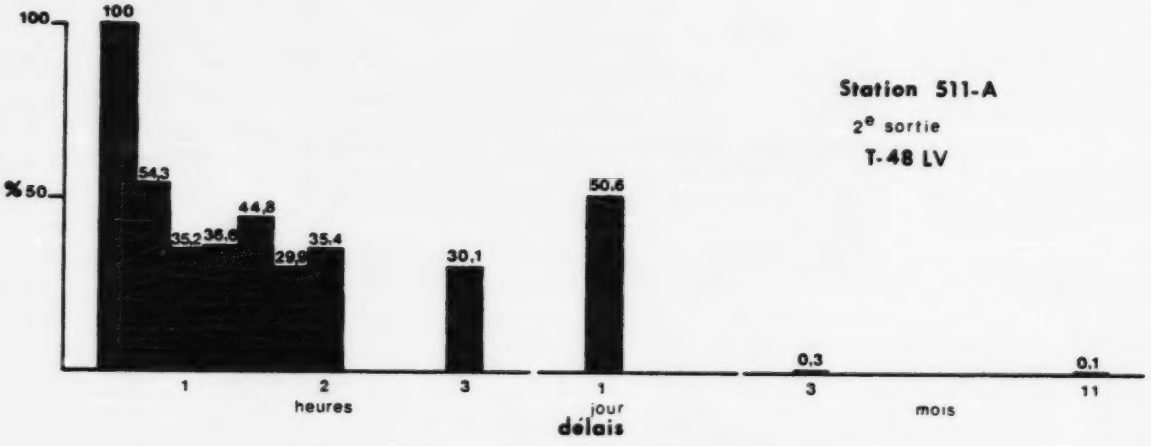


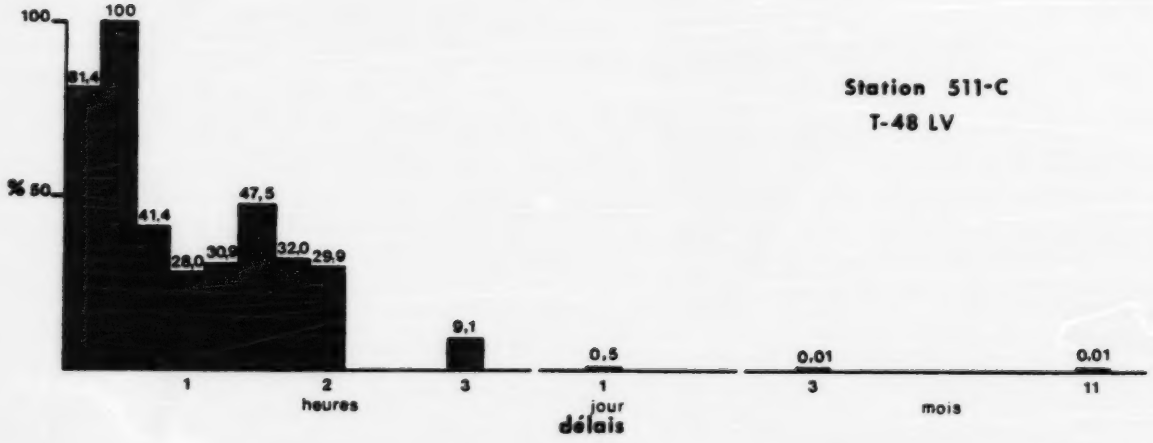
Figure 3: Histogrammes illustrant la diminution des concentrations de B.t. détectées en milieu lotique suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques.



Station 511-A
1ère sortie
T-48 LV



Station 511-A
2e sortie
T-48 LV



Station 511-C
T-48 LV

La figure 4 montre les diminutions des concentrations de B.t. en milieu lentique avec le temps. Une semaine après les arrosages, seulement 1,1% à 15,4% de la quantité maximale initiale est détectée en profondeur. Onze mois plus tard, les concentrations n'excèdent jamais 0,8% des quantités maximales observées à chacune des stations.

Pour 5 des 8 échantillons récoltés juste avant les arrosages, aucune concentration de B.t. n'a été détectée. Considérant qu'une certaine proportion du B.t. peut persister dans l'eau onze mois, les quantités retrouvées aux trois autres stations avant le traitement constitueraient d'autres valeurs témoignant du même phénomène. En effet, même si aucune de ces stations n'a subi de traitements opérationnels aux insecticides biologiques dans les années antérieures, elles étaient localisées sous les lignes de vol sélectionnées pour les fins du calibrage des appareils à l'automne 1983 et 1984. Ceci expliquerait donc, d'une part, la raison pour laquelle on retrouve la présence de B.t. dans l'eau avant les pulvérisations de 1984 et, d'autre part, l'augmentation des concentrations détectées trois mois après les arrosages à ces mêmes stations (106,05 $x10^4$, 12,15 $x10^4$ et 16,28 $x10^4$ u.f.c./l.).
Différents facteurs peuvent expliquer les fluctuations de B.t. en milieu lentique. Par exemple, une diminution de volume de la mare peut engendrer une augmentation de la concentration de B.t. Effectivement, 6 semaines après les pulvérisations, on note une importante diminution du volume de la mare à la station 514-C. La concentration, à ce moment, est de 4,04 $x10^4$ u.f.c./l

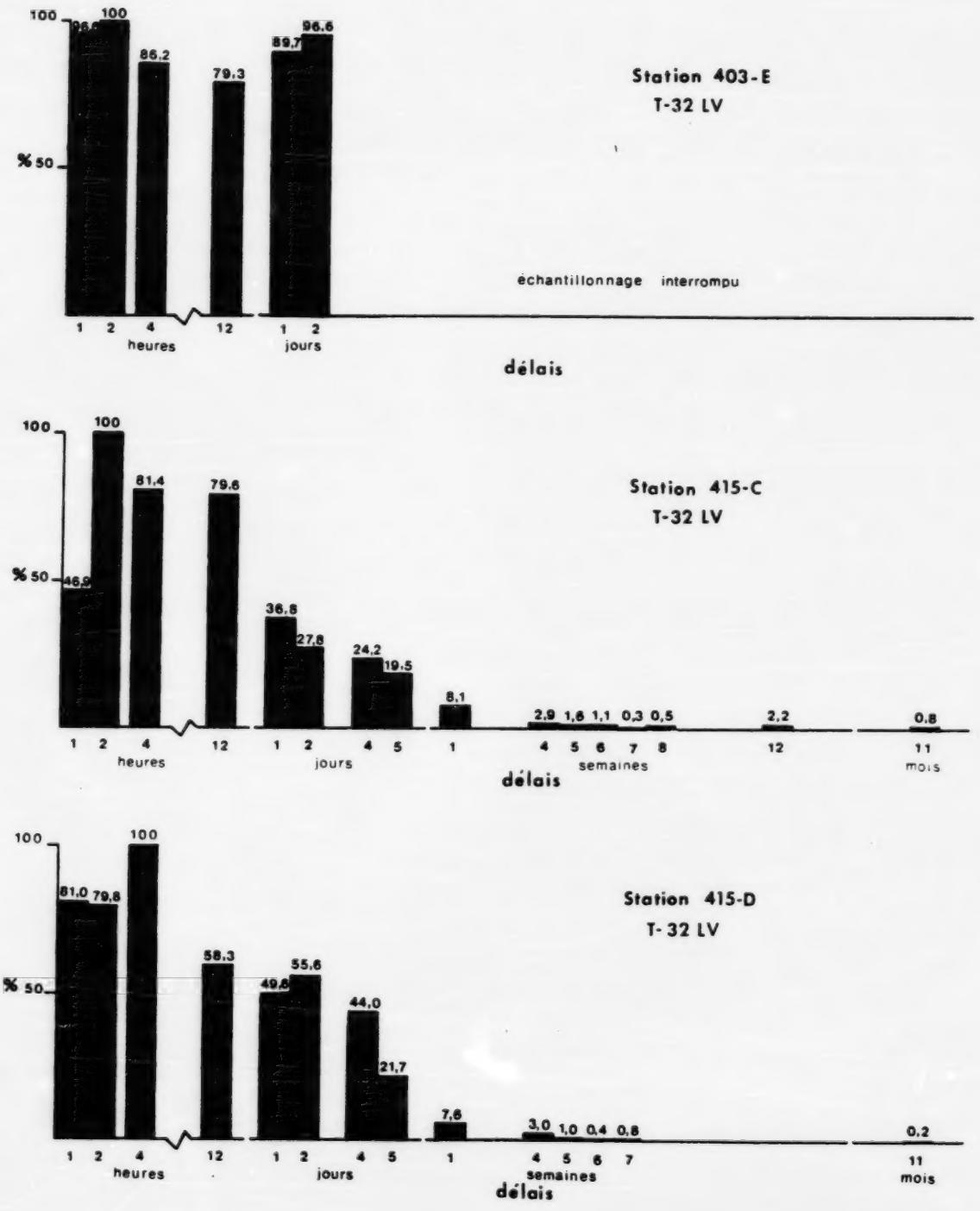


Figure 4: Histogrammes illustrant la diminution des concentrations de B.t. détectées en profondeur en milieu lentique suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques.

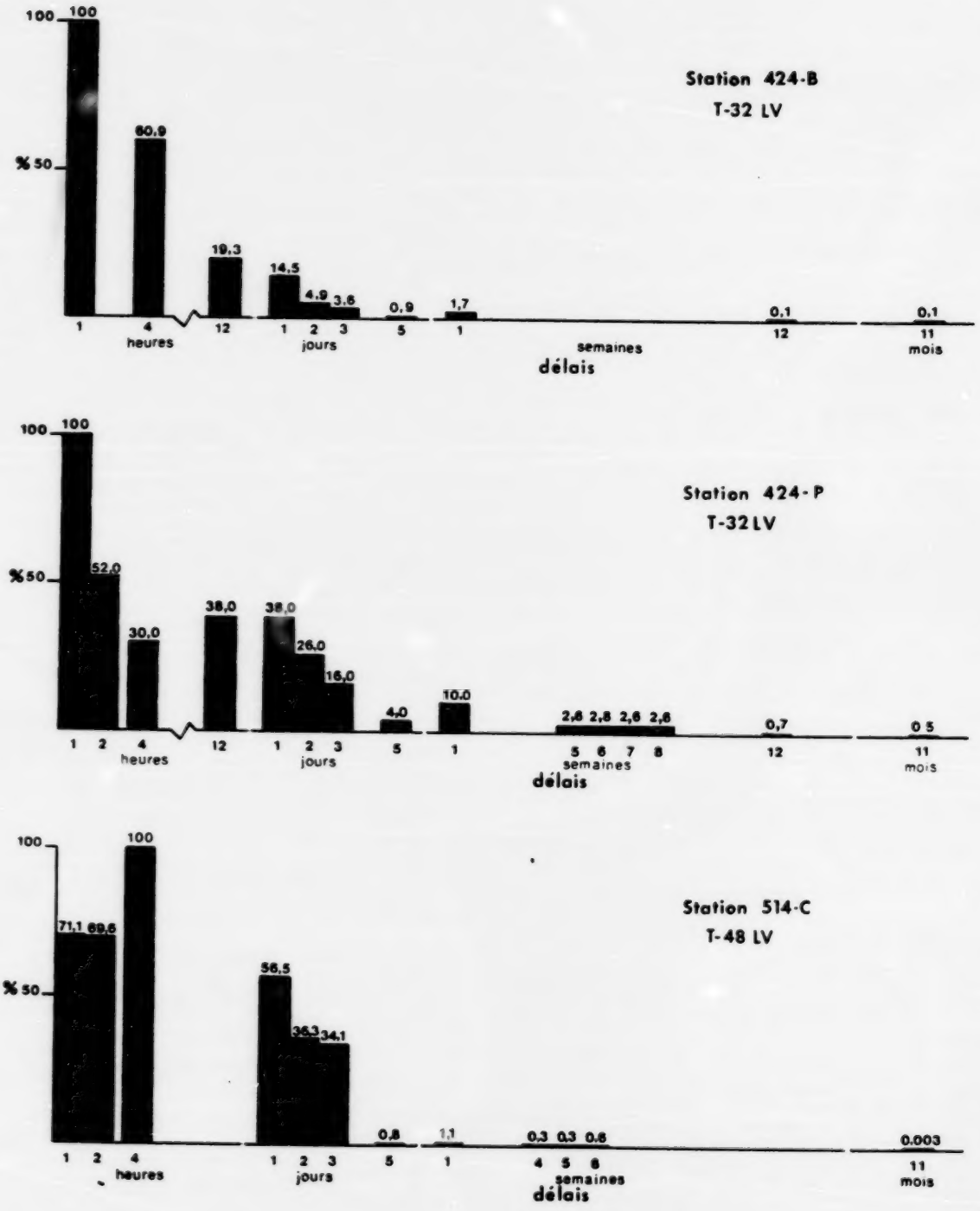


Figure 4: Suite

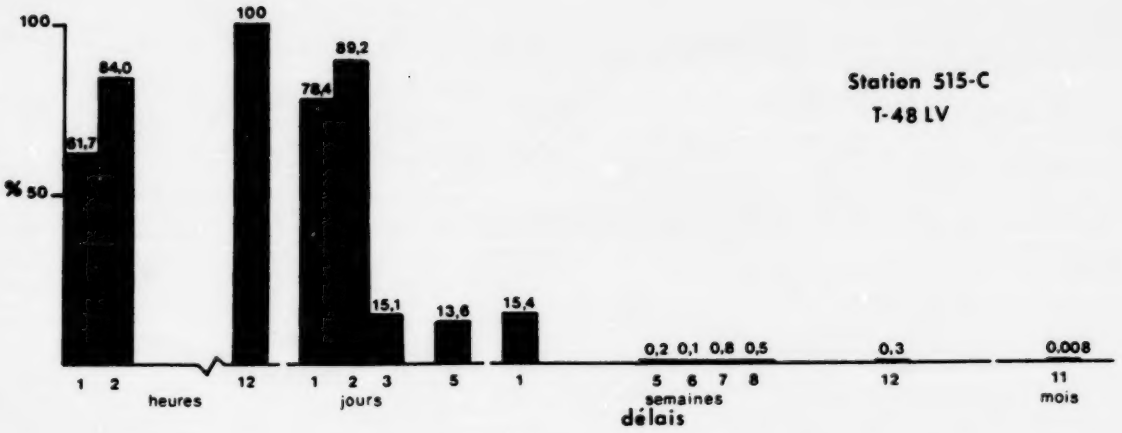


Figure 4: Suite

alors qu'une semaine plus tôt elle était de 1,85 $x10^4$ u.f.c./l. Inversement, une augmentation de volume de la mare, suite à une pluie, peut provoquer, par dilution, une nette diminution de la concentration de B.t.

Par contre, une augmentation considérable (20cm) du niveau de la mare avait été notée lors de l'échantillonnage de la station 515-C, 7 semaines après les arrosages. On doit donc s'attendre de retrouver une plus faible quantité de B.t. due au phénomène de dilution. Cependant, une augmentation de 11900 u.f.c./l a été enregistrée lors de l'analyse de l'échantillon. Ceci nous permet de constater que le phénomène de dilution n'est pas le seul facteur influençant l'évolution des quantités de B.t. dans l'eau.

Certains biais peuvent survenir lors de la récolte et de l'analyse des échantillons. A chacune des stations et pour chaque délai, un seul échantillon de deux bouteilles est généralement prélevé; c'est à partir de ce seul échantillon que la concentration réelle dans l'eau est quantifiée. De même, au moment de l'analyse, plusieurs estimations sont réalisées afin de déterminer la proportion de B.t. à travers d'autres bacilles contenues à l'intérieur des pétris. De plus, ces résultats reposent souvent sur un nombre restreint de données d'où le biais possible à l'égard de la détermination de la concentration de B.t. Malheureusement, le pourcentage d'erreur au niveau de l'analyse des échantillons d'eau n'est pas connu à cette date. (M.E.R., résultats à venir).

Les concentrations maximales observées en milieu lotique surviennent dans les trente premières minutes après les opérations. En milieu lentique, elles parviennent généralement dans les deux premières heures suivant les pulvérisations (6 stations sur 9). Rappelons qu'il n'y a pas eu d'échantillonnage en milieu lentique durant la première heure tel qu'en milieu lotique. C'est pourquoi les concentrations maximales réelles en surface n'ont possiblement pas été mesurées. Ainsi, le délai auquel les quantités maximales parviennent dans les mares pourrait être semblable à celui observé en milieu lotique, à savoir 30 minutes. Cependant, ceci n'expliquerait pas l'augmentation des concentrations plusieurs heures après les pulvérisations, notamment jusqu'à une journée dans le cas de la station 413-C. La pluie a débuté directement après le traitement des parcelles 413 et 415. Le lessivage du sol à proximité des mares pourrait dès lors expliquer l'arrivée tardive des concentrations maximales ou l'augmentation des concentrations après plusieurs heures.

Bien qu'il soit hasardeux d'utiliser le terme persistance pour le B.t. en milieu lotique, il n'en demeure pas moins que son comportement à long terme laisse entrevoir sa résistance aux variations du milieu. Le poste d'échantillonnage demeure fixe alors que la colonne d'eau se déplace continuellement. Dès lors, la persistance du B.t. en milieu lotique ne doit pas être considérée au même titre qu'en milieu lentique.

Les concentrations initiales détectées en rivières proviennent directement des arrosages qui atteignent l'eau. Par la suite, le lessivage du sol, en période de pluie ou à la fonte des neiges, pourrait expliquer la présence de B.t. plusieurs mois après les opérations. En effet, le B.t. peut persister dans les sols forestiers malgré les conditions hivernales et ce, indépendamment que le sol soit ou non stérile (McBride et Coyle, 1980; M.E.R., résultats à venir).

En milieu lentique, le B.t. a persisté pour une période d'au moins un an. Le facteur le plus probable d'influencer la diminution du B.t. est sa faible résistance aux radiations solaires. Leong et al. in Pinnock, (1982) attribuent la faible persistance de B.t. sur les feuilles à ce phénomène. De plus, la présence d'autres microorganismes pourrait accélérer le taux de mortalité de B.t. en milieu aquatique puisque West et al. (1984) révèlent cette possibilité au niveau des sols forestiers.

Jusqu'à présent, très peu d'études sur le comportement de B.t. dans l'environnement ont été réalisées. La réalisation du projet de persistance de B.t. dans les eaux naturelles en milieu forestier permet de constater que les spores de B.t. peuvent persister dans l'eau malgré les variations climatiques québécoises.

Bibliographie

Collins, C.H. et M.P. Lyne, 1984. Microbiological Methods. fifth edition, Butterworths. Chap. 9

Mamarbachi G., R. Dostie et P.M. Marotte, 1985. Persistance des résidus d'aminocarbe et de fénitrothion dans les eaux naturelles en milieu forestier. Service d'entomologie et de pathologie, Ministère de l'Energie et des Ressources, Gouvernement du Québec. 19p.

McBride, R.P. et A.M. Coyle, 1980. The persistance of aerially applied Bacillus thuringiensis kurstaki in Nova Scotia forest soils. Dept. of Lands and Forests, Nouvelle-Ecosse.

Pinnock, D.E., 1982. "The persistance of Bacillus thuringiensis on leaf surfaces". Proc. 3, Int. Colloq. Invert. Path., University Sussex, Brighton, United Kingdom, 313-318.

West, A.W., H.D. Burges et C.H. Wyborn, 1984. "Effect of incubation in Natural and Autoclaved soil upon Potency and viability of Bacillus thuringiensis." Journal of invertebrate pathology 44, 121-127.

ANNEXE 1

Composition des milieux de culture utilisés lors de l'analyse des échantillons d'eau

NUTRIENT AGAR:

	PAR LITRE
- Extrait de boeuf	3,0 g
- Peptone	5,0 g
- Agar	15,0 g

PEMBA:

- Peptone	1,0 g
- Mannitol	10,0 g
- Chlorure de sodium	2,0 g
- Sulfate de magnésium	0,1 g
- Si-sodium hydrogène phosphate	2,5 g
- Phosphate de potassium di-hydrogène	0,25 g
- Bleu de Bromothymol	0,12 g
- Pyruvate de sodium	10,0 g
- Agar	14,0 g
- Polymyxine B	100 000 unités
- Emulsion de jaune d'oeuf	50 ml